

Влияние различных концентраций гидрохинона на роговых катушек (*Gastropoda*, *Pulmonata*, *Bulinidae*), инвазированных партенитами *Tylodelphys excavata* (Trematoda: Diplostomatidae)

А.П. Стадниченко, Н.С. Погорелова, С.А. Руденко

При одинаковой симптоматике отравления гидрохиноном ($0.1\text{--}200\text{ мг/л}^{-1}$) тяжесть патологического процесса у *Planorbarius corneus*, инвазированных партенитами *Tylodelphys excavata*, значительно большая, чем у незараженных особей. При одинаковой концентрации токсиканта и прочих равных условиях аналогичные симптомы заболевания выражены у зараженных животных ярче и регистрируются ранее, чем у свободных от инвазии. Скорость и степень обратимости симптомов отравления у зараженных особей намного ниже, а последствие гидрохинона сохраняется намного дольше, чем у незараженных моллюсков.

Концентрация фенолов и их гомологов в промышленных стоках в местах выброса их в природные водоемы достигает значений $60\text{--}3800\text{ мг/л}^{-1}$ (Флеров, 1977). Несмотря на разбавление стоков речными водами, содержание фенолов в реках даже на значительном удалении от источников загрязнения ($15\text{--}30\text{ км}$) может исчисляться сотыми и десятими долями мг на 1 л при предельно допустимой концентрации (ПДК) 0.001 мг/л^{-1} . Регламентация химической нагрузки на водоемы ПДК и мониторинг невозможны без выяснения степени токсичности загрязняющих веществ для гидробионтов различного систематического положения, в том числе и для пресноводных моллюсков — облигатных промежуточных хозяев трематод.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал: 815 экз. роговой катушки *Planorbarius corneus* (L.) из бассейна Среднего Днепра (р. Гуйва, с. Пряжево Житомирской обл.), свободных от инвазии и зараженных партенитами *Tylodelphys excavata* (Rud.), собранных в октябре 1988 г. Моллюсков, доставленных в лабораторию в открытых стеклянных емкостях (без воды), акклимировали к лабораторным условиям в течение 2 сут. Их содержали в аквариумах, заполненных дехлорированной путем предварительного отстаивания (1 сут) водопроводной водой (рН 7.5, температура воды — $20\text{--}21^{\circ}$).

Острые токсикологические опыты поставлены по методике Алексеева (1981). В качестве отравляющего вещества использован двухатомный фенол гидрохинон (=пара-диоксибензол) – $C_6H_4(OH)_2$. Ориентировочным опытом установлена устойчивость катушек, о которой судили по значениям основных токсикологических показателей (табл. 1). Он проведен в 2 этапа: на первом – использованы растворы, содержащие 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100, 1000, 10000 мг/л⁻¹ гидрохинона, на втором – 100, 200, 300, 400, 500 мг/л⁻¹. По результатам этого и основного опытов определена чувствительность моллюсков к гидрохинону, которую оценивали по уровню их смертности (табл. 1). В основном опыте использованы растворы гидрохинона концентрацией 1, 50, 100 и 150 мг/л⁻¹. Животных сериями по 10–15 экз. помещали в стеклянные сосуды объемом 3 л на 2 сут. Через сутки растворы токсиканта заменяли свежими. Результаты опытов снимали через 10, 30 мин и через 1, 3, 6, 12, 24, 48 ч.

Таблица 1

Устойчивость (мг/л⁻¹) и чувствительность (%) *Planorbarius corneus* к гидрохинону

Устойчивость (основные токсиколо- гические показатели)	Чувствительность	
	концентрация растворов (мг/л ⁻¹)	смертность
LC ₀ < 0.1–1	1	27.7
	50	43.3
	100	76.0
LC ₅₀ = 59.5	150	91.1
LC ₁₀₀ = 200	200	100.0

Гемолимфу получали методом прямого обескровливания. Содержание гемоглобина в ее плазме устанавливали по Сали. Цифровые результаты эксперимента обработаны методами вариационной статистики по Лакину (1973).

РЕЗУЛЬТАТА ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гидрохинон – комбинированный яд (в небольших дозах – нервно-паралитический, в больших к тому же – локальный) резорбтивного действия. Полагают (Liebmann, 1960), что пороговая концентрация его для водных животных составляет 1.5–5.6 мг/л⁻¹. Однако, по нашим наблюдениям, у

катушек, экспонированных в растворах, содержащих $0.1-1 \text{ мг/л}^{-1}$ гидрохинона, отчетливо выражена реакция избегания, являющаяся одним из проявлений защитно-приспособительного потенциала этих животных. Эта стадия отравления характеризуется значительным возрастанием двигательной активности моллюсков, которые быстро и целенаправленно перемещаются по стенкам аквариумов, стремясь поскорее покинуть затравленную среду. Они поднимаются над урезом воды, нередко образуя у горловины сосудов сплошное кольцо (Стадниченко и др., 1988). Эта форма оборонительного поведения одинаково быстро проявляется как у незараженных, так и у инвазированных трематодами особей – через 10–20 мин с момента затравливания среды. Следовательно, для свободных от заражения животных, а для зараженных трематодами – при крайне невысокой интенсивности инвазии (локальное мелкоочаговое заражение) нижней границе стадии стимуляции соответствуют растворы, содержащие 1 мг/л^{-1} гидрохинона. Для животных, интенсивно инвазированных партенитами трематод (тотальное заражение органа), значение этого показателя на порядок ниже (0.1 мг/л^{-1}). При 1 мг/л^{-1} смертность таких животных составляет около 28 % (табл. 1), в то время как среди незараженных моллюсков и слабо инвазированных трематодами погибших особей не обнаружено. Это свидетельствует о том, что трематодная инвазия является дополнительной функциональной нагрузкой, влекущей за собой снижение защитно-приспособительных возможностей хозяев, одним из проявлений чего и является возрастание их чувствительности к воздействию на моллюсков токсиканта.

При 50 мг/л^{-1} гидрохинона двигательная активность отмечена у катушек лишь на протяжении первых 10–30 мин от начала опыта. При этом только около 30 % из них устремляются за пределы токсической среды – преимущественно незараженные особи и единичные, отличающиеся весьма невысокой зараженностью. Интенсивно инвазированные трематодами катушки, равно как и небольшое число незараженных (старые, ослабленные животные), совершают постепенно замедляющееся беспорядочное передвижение в пределах раствора

до полного обездвиживания. У зараженных особей, как правило, оно наступает в 1.2–1.5 раза быстрее, чем у свободных от инвазии. Более высокие (100 и 150 мг/л⁻¹) концентрации гидрохинона полностью подавляют двигательную активность катушек. Они неподвижно лежат на дне аквариумов. Мышцы ноги и колюмеллярная мышца у 83.5 зараженных и 51 % свободных от заражения животных сокращены, вследствие чего нога их втянута в раковину, а края ее неровные, волнистые. Из-за сжатия тела сокращается его общая поверхность, чем ограничивается возможность контакта особей с токсикантом. Эта защитная реакция, как видно из приведенных выше цифровых данных, в большей мере выражена у инвазированных, чем у свободных от заражения особей.

При 100–150 мг/л⁻¹ гидрохинона примерно у половины незараженных особей, а среди зараженных – только у слабо инвазированных трематодами происходит обводнение тканей тела, выражающееся сначала (через 6–12 ч) слабой пастозностью головы и ноги, переходящей к моменту завершения опыта в разлитой отек. При этом увеличившиеся в объеме в 1.5–2 раза голова и в 2–2.5 раза нога вывисяют из раковины (реакция выпадения). Такие животные обычно очень слабо реагируют на механические раздражения, а иногда полностью утрачивают способность к этому. У них значительно понижен уровень аэробного метаболизма, о чем мы судим по изменениям содержания гемоглобина в их гемолимфе (Р более 98.2 %). Поскольку этот показатель подвержен возрастной изменчивости (Стадниченко и др., 1989), моллюски, с которыми мы работали, были подразделены на 3 размерно-возрастные группы (табл. 2). Оказалось, что при концентрациях гидрохинона 1–100 мг/л⁻¹ уровень содержания гемоглобина заметно сокращается по сравнению с нормой: у незараженных катушек – в 1.1 – 1.5, у зараженных – в 1.5–3.2 раза. Усиление аэробного дыхания позволяет увеличить энергообеспечение особей и тем самым повысить их жизнестойкость в токсической среде. Необходимо отметить, что часть животных все же погибает уже на этой стадии отравления (табл. 1). Это в основном зараженные особи, у которых, вероятно, не срабатывает регуляторный механизм,

компенсирующий повреждения организма, вызванные одновременным воздействием паразитов и токсиканта.

Диапазон концентраций гидрохинона $100\text{--}150\text{ мг/л}^{-1}$ вызывает у катушек развитие депрессии. Содержание гемоглобина в их гемолимфе при этом резко возрастает, что свидетельствует о наличии сдвига в системе оксигемоглобин – метгемоглобин в сторону повышения концентрации последнего. При этом у свободных от инвазии особей прирост содержания этого дыхательного пигмента составляет в среднем 32, в то время как у зараженных – 138.6%. Это свидетельствует о том, что при одинаковой концентрации в среде гидрохинона снижение жизнеспособности у инвазированных особей осуществляется более стремительно. Депрессия наиболее ярко выражена (табл. 2) у катушек средней и старшей размерно-возрастных групп (как незараженных, так и зараженных). Причем понижение уровня аэробного обмена у зараженных катушек более чем в 4 раза превышает таковое у незараженных особей. Резко возрастает смертность подопытных животных (табл. 1). В этих условиях выживают только те особи, у которых успешно «срабатывает» механизм частичного или полного «переключения» аэробного расщепления углеводов на анаэробное, являющийся (Маляревская, 1977; Биргер, 1979) у водных животных основой приспособления их к воздействию как токсической среды, так и паразитарного фактора. При этом резко возрастает поступление во внутреннюю среду гидробионтов продуктов кислой природы, в том числе углекислого газа. Последнее, по мнению Строганова (1967), способствует нарушению водного обмена, выражающемуся в задержке воды в организме. Этим, по-видимому, и обусловлено отчасти обводнение катушек, которое мы наблюдали в растворах, содержащих $100\text{--}150\text{ мг/л}^{-1}$ гидрохинона.

С другой стороны, известно (Бранд, 1951), что обводнение тканей сопряжено с усилением окислительных процессов в цитоплазме, так как благодаря набуханию входящих в ее состав коллоидов возрастает поступление кислорода в клетки. Пока неясно, какова доля участия в образовании разлитого отека реакции повреждения и защитно-приспособительного механизма.

Таблица 2

Влияние различных концентраций гидрохинона на содержание гемоглобина (г%) в гемолимфе *Planorbarius corneus* в норме и при инвазии партенитами *Tylodelphys excavata*

Диаметр раковины	Инвазия	<i>n</i>	lim	$\bar{x} \pm m_x$	δ	<i>V</i>
12-21	Нет	47	1.07–1.6	1.33±0.005	0.03	2.44
	Есть	14	0.64–2.27	1.54±0.09	0.35	25.74
22-26	Нет	40	0.93–1.8	1.27±0.02	0.1	7.98
	Есть	10	0.64–2.67	1.98±0.06	0.18	9.31
27-33	Нет	30	0.84–2	1.49±0.02	0.08	5.66
	Есть	20	0.74–2.8	2.12±0.03	0.14	6.82
1 мг/л ⁻¹						
12-21	Нет	46	0.97–2.4	1.14±0.01	0.1	8.36
	Есть	13	1–1.08	1.04±0.05	0.17	15.78
22-26	Нет	30	0.96–1.06	0.97±0.003	0.02	1.94
	Есть	20	0.4–1.2	0.86±0.01	0.05	6.01
27-33	Нет	27	0.75–1.12	1.06±0.006	0.03	2.75
	Есть	23	0.5–1	0.87±0.01	0.05	6.16
50 мг/л ⁻¹						
12-21	Нет	47	0.97–1.47	1.12±0.003	0.03	2.3
	Есть	13	0.74–1.4	1.02±0.04	0.15	14.80
22-26	Нет	33	0.8–1.41	1.18±0.006	0.03	2.81
	Есть	17	0.37–1.2	0.83±0.02	0.07	8.12
27-33	Нет	23	0.91–1.12	1.01±0.003	0.02	1.57
	Есть	27	0.4–1.12	0.67±0.01	0.06	8.53
100 мг/л ⁻¹						
12-21	Нет	45	0.78–1.5	1.14±0.004	0.03	2.52
	Есть	15	0.54–1.2	0.64±0.02	0.07	11.45
22-26	Нет	43	0.91–1.2	1.06±0.01	0.09	8.06
	Есть	17	0.48–1.12	0.8±0.03	0.13	16.51
27-33	Нет	30	0.91–1.4	1.13±0.006	0.04	3.1
	Есть	30	0.69–1.4	1.04±0.01	0.05	5.03
150 мг/л ⁻¹						
12-21	Нет	31	0.64–1.8	1.34±0.009	0.05	3.78
	Есть	34	0.48–1.92	1.57±0.01	0.07	4.34
22-26	Нет	28	1–1.62	1.38±0.03	0.17	12.07
	Есть	22	1.02–2.12	2.05±0.02	0.08	4.73
27-33	Нет	31	0.85–1.75	1.69±0.07	0.37	22.03
	Есть	19	0.9–2.85	2.33±0.02	0.1	4.32

Однако, исходя из того что у исследованных нами катушек обводнению тканей подвержены в среднем около 50 незараженных и только 1–2 % зараженных особей, можно предположить, что это не столько следствие декомпенсации, сколько проявление защитно-приспособительного процессу. Обводнение тканей способствует «разбавлению» токсиканта и ослаблению его токсического воздействия. Это особенно важно относительно отравляющих веществ резорбтивного действия, которые, проникнув в организм, оказывают

на него токсикогенное воздействие только при их определенной концентрации. Гидрохинон, о чем упоминалось выше, относится именно к этой группе отравляющих веществ. Обводнению тела моллюсков обычно предшествует его ослизнение. При 1 мг/л^{-1} гидрохинона у всех катушек возрастает выделение слизи железистыми клетками, заключенными в коже. Через 10 мин от начала опыта животные обволакиваются более или менее толстым слоем слизи, ограничивающим в какой-то мере доступ токсиканта к их коже. При более высоких концентрациях гидрохинона (50 мг/л^{-1} и выше) эта реакция «срабатывает» значительно позже (через 3 ч с момента стрессирующего воздействия, к тому же только у 33–36 % моллюсков, среди которых явно преобладают незараженные особи.

Отсутствие обильного ослизнения тела сопровождается мозаичным слущиванием эпителия, покрывающего голову и дорсальную поверхность ноги, а также выстилающего полость легкого. Такие повреждения отмечены у 41 незараженного и 73 % зараженных трематодами катушек после 2-суточного пребывания их в растворах, содержащих 100 мг/л^{-1} гидрохинона. Следовательно, гидрохинон при этой концентрации, кроме нервно-паралитического, оказывает локальное «прижигающее» воздействие на моллюсков. Одновременно с этим у них наблюдается переполнение гемолимфой кровеносных сосудов легкого, адаптивной жабры, почки, желудочка сердца, а также «выпотевание» гемолимфы, обусловленное повышением проницаемости стенок сосудов. При высокой интенсивности инвазии последнее регистрируется в 1.5–2 раза чаще, чем у свободных от заражения катушек. Кроме того, в растворах, содержащих $100\text{--}150 \text{ мг/л}^{-1}$ гидрохинона, отмечается иногда изменение окраски и «консистенции» («разжижение») гепатопанкреаса и почки.

При 50 мг/л^{-1} гидрохинона у 63–67 % моллюсков после 3-часовой экспозиции наблюдается выделение из полости легкого пузырьков воздуха, а при $100\text{--}150 \text{ мг/л}^{-1}$ токсиканта тоже самое происходит через 2 ч у 73 % незараженных и через 1.5 ч у 86 % зараженных трематодами животных.

На сублетальной стадии отравления у катушек наблюдается реакция «обмирания». При этом они полностью обездвиживаются и не реагируют на механические раздражения. Полагают (Биргер, 1979, и др.), что утрата моллюсками подвижности связана с «переключением» у них аэробного обмена на анаэробный. «Обмирание» – обратимый процесс. У катушек, помещенных по завершении токсикологического эксперимента в отстоянную водопроводную воду, признаки его бесследно исчезают через 2–20 ч у свободных от инвазии и через 6–43 ч – у зараженных особей. Следовательно, у ослабленных инвазией катушек последствие гидрохинона является более длительным.

При летальных концентрациях токсиканта у моллюсков развивается истинный шок, предшествующий 100 %-ной гибели животных (как незараженных, так и зараженных), обусловленной полной несостоятельностью их защитно-приспособительных процессов.

Исследованием установлено, что у зараженных трематодами катушек при отравлении их гидрохиноном развитие патологического процесса осуществляется аналогично таковому у незараженных особей. Однако из-за инвазии, являющейся для этих животных дополнительной функциональной нагрузкой, защитно-приспособительные возможности зараженных моллюсков значительно слабее, чем свободных от инвазии. Поэтому симптомы отравления при одной и той же концентрации гидрохинона регистрируются у них ранее и выражены сильнее, а защитно-приспособительные реакции «срабатывают» позже и слабее. Чувствительность катушек, зараженных партенитами трематод, к растворам гидрохинона выше, чем незараженных особей, о чем свидетельствует более высокая их смертность. Скорость и степень обратимости различных симптомов отравления у инвазированных животных намного ниже, а последствие гидрохинона проявляется намного дольше, чем у свободных от инвазии особей. Значения основных токсикологических показателей, следовательно, и диапазон концентраций LC_0 и LC_{100} , а также градация патологического процесса для инвазированных животных обусловлены интенсивностью их заражения. При невысокой интенсивности инвазии

значения этих показателей такие же, как и у свободных от инвазии животных. При средней степени паразитарного поражения хозяев интервал между значениями основных токсикологических показателей сужается ($LC_0=0.1$, $LC_{100}=100$ мг/л⁻¹), а при крайне тяжелой инвазии он находится в пределах 0.1 – 1 мг/л⁻¹.

По шкале токсичности отравляющих веществ для водных животных (Метелев и др., 1971) гидрохинон относительно свободных от трематодной инвазии катушек является умереннотоксичным, относительно инвазированных в средней степени – сильнотоксичным и высокотоксичным – относительно моллюсков, характеризующихся тяжелой инвазией.

Список литературы

1. Алексеев В.А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. 1981. Т. 17, № 3. С. 92–100.
2. Биргер Т.И. Метаболизм водных беспозвоночных в токсической среде. Киев: Наук. думка, 1979. 190 с.
3. Бранд Т. Анаэробизм у беспозвоночных. М.: ИЛ, 1951. 335 с.
4. Веселое Е.А. Основные фазы действия токсических веществ на организмы // Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. по вопр. водн. токсикологии. М., 1968. С. 15–16.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1973. 343 с.
6. Маляревская А.Я. Биохимические механизмы адаптации гидробионтов к токсическим веществам // Гидробиол. журн. 1977. Т. 21, № 3. С. 70–82.
7. Метелев В.В., Канаев А.И., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология. М.: Колос, 1971. 247 с.
8. Стадниченко А.П., Руденко С.А., Погорелова Н.С. Влияние различных концентраций гидрохинона на быстрые поведенческие и некоторые физиологические реакции пресноводных брюхоногих моллюсков // Деп. в УкрНИИНТИ. № 1675-Ук 88. 1988. 8 с.
9. Стадниченко А.П., Куркчи Л.Н., Сластенко Н.Н., Мокрицкая А.М.,

Цвинарский В.В., Ищук Т.В. Влияние антропогенных загрязнений на физико-химические свойства гемолимфы пресноводных моллюсков // Деп. в УкрНИИНТИ. № 292-Ук 89. 1989. 9 с.

10. Строганов Н.С. Роль среды в пластическом обмене у рыб // Обмен веществ и биохимия рыб. М., 1967. С. 23–30.
11. Флеров Б.А. Физиологические механизмы действия токсических веществ и приспособления к ним водных животных // Гидробиол. журн. 1977. Т. 19, № 1. С. 80–86.